BULLETIN INTERNATIONAL

DE L'ACADEMIE DES SCIENCES DE CRACOVIE.

Mai 1899.



Extrait du Bulletin de l'Académie des Sciences de Cracovie.
Mai 1899.

DIE REIFUNG UND BEFRUCHTUNG

DES EIES

VON APLYSIA DEPILANS

VON

ADAM BOCHENEK.



KRAKAU.
UNIVERSITÄTS-BUCHDRUCKEREI.
1899.

Extrait du Bulletin de l'Académie des Sciences de Cracovie.
Mai 1899.

28. — A. Bochenek: **O dojrzewaniu i zapłodnieniu jaja ślimaka Aplysia depilans.** (***Die Reifung und Befruchtung des Eies von Aplysia depilans***).

Die befruchteten Eier von Aplysia, welche die Grundlage dieser Arbeit bildeten, wurden von Herrn Prof. Dr. H. Hoyer iun. während dessen Aufenthaltes in Neapel in den Monaten April und Mai 1898 gesammelt. Die von einer Gallerthülle umgebenen Eier wurden in Perennyi's Flüssigkeit fixiert, darauf in Alkohol von 70°/₀, sodann von immer steigendem Procentgehalte entwässert, durch Alkohol-Chloroform, Chloroform, Chloroform-Paraffin übergeführt und in reinem Paraffin eingebettet. Die Paraffinblöcke wurden in Schnitte von 7·5 μ zerlegt und diese mittels destillierten Wassers auf Objectgläser serienweise aufgeklebt, sodann mit Heidenhain's Eisen-Alaun-Hämatoxylin gefärbt, mit oder ohne Vorfärbung mit Bordeau, oder mit Nachfärbung vermittels Eosin. Die Zeichnungen wurden alle mit der Seibertschen apochromatischen Immersion 2mm, Ocular Nr. IV, mit auf 19 ausgezogenem Tubus und der Camera von Zeiss ausgeführt. Einige von ihnen mussten aus 2 Schnitten zusammengestellt werden.

Sie wurden nach Präparaten durch Herrn Johann Barącz angefertigt.

Ausstossung der Richtungskörper.

Die Ausstossung der Richtungskörper und der Befruchtungsprocess verlaufen in den Eiern von Aplysia fast gleichzeitig. Das früheste Stadium, das ich beobachtet habe, ist in der Fig. 1. dargestellt. Wir sehen den Eikern mit noch gänzlich unversehrter Kernmembran, während sein Chromatin sich bereits zu den Vorstadien der Mitose anschickt. Neben dem bläschenförmigen Kerne finden wir eine zarte, aber ganz deutliche, achromatische Figur. Wir erblicken hier zwei schwarz tingierte punktförmige Centrosomen, von denen das eine gegen die Eiperipherie, das andere gegen die Eimitte zu gekehrt ist. Sie sind durch feine Fäden einer zarten, aber über dem Kern doch deutlichen Centralspindel verbunden, und um jedes derselben gruppiert sich unmittelbar eine deutliche Polstrahlung.

Die Lage der Centrosomen und der ganzen mitotischen Figur ist in den Anfangsstadien nicht immer dieselbe, wie in der Fig. 1. dargestellt; sie liegt nicht immer der Peripherie genähert, sondern nimmt oft die Mitte des Eies ein und erreicht erst in einem späteren Stadium die Eioberfläche. Von der Lage der ganzen mitotischen Figur ist natürlich das Aussehen der der Peripherie genäherten Polstrahlung abhängig. Im Falle, wo die Spindel der Eioberfläche genähert ist, kann die Polstrahlung nur einen Teil der Strahlensonne bilden. Der die Mitte der Centralspindel einnehmende Eikern verliert bald seine Membran und die Zugfasern der Spindel verbinden sich mit den in ihm entstandenen Chromosomen. Die Chromosomen ordnen sich sogleich im Aequator der Spindel zum Mutterstern der ersten Richtungsspindel an, 16 an der Zahl; sie erscheinen in diesem Stadium als kleine, kreuzförmige, der Achse der Spindel nach in die Länge gezogene Gebilde. Die Bestandtheile der Spindel, die Zugfasern und die Fasern der Centralspindel kann man jetzt nicht unterscheiden. Erst wenn die getheilten Chromosomen auseinander gerückt sind, und die Zugfasern sich beträchtlich verkürzt haben, treten die Centralspindelfasern ganz genau hervor. Die Fibrillen der Polstrahlungen, die der

Spindel anliegen, kreuzen sich während dieser Stadien sehr schön in der Aequatorialebene der Spindel.

Nunmehr beginnen vor allem Veränderungen an der peripheren Polstrahlung. Ihre Fibrillen verkürzen sich und verschwinden endlich gänzlich.

Die Stelle, an der jetzt das Polkörperchen die Eioberfläche berührt, wird zunächst ziemlich stark eingezogen, so dass sich hier eine trichterförmige Einsenkung bildet. Die bisher ganz schlanke Spindelfigur wird in dieser Zeit mehr tonnenförmig, wobei ihre Längsachse sich ganz beträchtlich verkürzt. Die Einsenkung der Eioberfläche wird ausgeglichen, und es erfolgt bald eine Ausbuchtung, in welche das oberflächliche Polkörperchen mit den ihm anliegenden Chromosomen und einem Theil der Centralspindel eintritt. Die Polstrahlung des in die Ausbuchtung eingetretenen Polköperchens war schon seit längerer Zeit im Verschwinden begriffen, jetzt hat sie sich gänzlich zurückgebildet. An den Centralspindelfasern lassen sich jetzt im Aequator kleine Verdickungen wahrnehmen, es sind dies die als Zellplatte bekannten frühesten Anlagen des zukünftigen Zwischenkörpers.

Seit dem Momente, wo die halbe Spindel in die Ausbuchtung übergetreten ist, schnürt sich die Eioberfläche ein, so dass sie die Centralspindel ringförmig zusammendrückt. Schliesslich bleibt der Richtungskörper nur durch den Zwischenkörper mit der Eizelle in Verbindung. Fig. 5.

Die im Ei zurückgebliebene Hälfte der karyokinetischen Figur beginnt sogleich sich zur Bildung der zweiten Richtungsspindel vorzubereiten; als erstes Zeichen hiervon erblicken wir die Theilung des im Ei verbliebenen Centrosomas. Zwischen den beiden Tochtercentrosomen entsteht eine anfangs kleine, dann aber schnell anwachsende Centralspindel. Die Achse der neu entstehenden Spindel bildet zunächst mit dem ihr entsprechenden Eiradius einen geraden Winkel, bei ihrer weiteren Entwickelung führt sie aber eine Drehung in dem Sinne aus, dass sie anfangs in eine paratangentiale Richtung (Fig. 6), gelangt, sodann aber sich in einen Eiradius einstellt. (Fig. 7). Es

kommt zu einer Reconstruction des Eikernes während dieser Zeit gar nicht, sondern die Chromosomen, die zunächst der Oberfläche der sich neu bildenden Spindel anliegen, gelangen in die Aequatorialebene und ordnen sich zum Mutterstern an. Die Zahl der Chromosomen ist, so wie in der ersten Spindel, 16. Die so enstandene Figur weist keine principiellen Unterschiede von der ersten Richtungsspindel auf, sie ist nur oft mehr als um die Hälfte kleiner, als dieselbe.

Auch der weitere Process ist dem beim ersten Richtungskörper beschriebenen Vorgang ganz analog. Er endet gleichfalls mit der Bildung eines starken kreisförmigen Zwischenkörpers, der noch lange Zeit während der weiteren Befruchtungsvorgänge fortbesteht. Die Zahl der Richtungskörperchen ist stets zwei, das erste von ihnen zeichnet sich gewöhnlich durch seine bedeutendere Grösse aus. Die in den ersten Richtungskörper übergetretenen Spindelfasern bleiben in ihm noch lange Zeit erhalten (Fig. 11, 14, 17, 18, 21, 22), das Polkörperchen ist aber nicht mehr zu sehen. Seine Chromatinbestandtheile bilden manchmal einen kleinen bläschenförmigen Kern, öfters kommt es aber zur Bildung eines einheitlichen Kerns nicht, sondern bleiben die Chromosomen als kleine Chromatinstücke im Richtungskörper zerstreut. Der erste Richtungskörper kann in seltenen Fällen einer Theilung unterliegen. Im zweiten, viel kleineren Richtungskörper bildet das Chromatin gewöhnlich einen kreisförmigen Kern. Aus dem ersten Richtungskörper konnte ich an der Stelle des Zwischenkörpers einen dünnen Faden heraustreten sehen. (Fig. 13, 18, 21, 22). Der Faden, der manchmal an die Eizelle, das andere mal an den zweiten Richtungkörper herantrat, endete öfters auch ganz frei unweit seiner Abgangsstelle.

Abnorme Bilder der Richtungsspindel habe ich öfters beobachtet. Es waren Anomalien der Lage der Spindel, so wie auch mehrpolige Spindelfiguren. Eine ganz häufige Anomalie der Spindellage war die, dass beide Centrosomen an der Eioberfläche lagen, während die Spindel eine Eisecante bildete. Ein Beispiel einer dreipoligen Spindel ist in Figur 8. abge-

bildet. Die Spitzen des Dreiecks sind durch Centrosomen eingenommen, den drei Seiten des Dreiecks entsprechen ganz scharf angedeutete Centralspindeln. Die Chromosomen liegen den Spindeln an und bilden eine grössere Anhäufung von Chromatin in der Mitte der Dreiecks In der Figur ist die Basis des Dreiecks der Eimitte zugekehrt; in anderen Fällen befand sich die Basis mit den zwei Centrosomen an der Oberfläche des Eies. Als Entstehungsursache einer solchen Spindelfigur dürfte wohl eine frühzeitige Theilung des inneren oder äusseren Polkörperchens angesehen werden.

Der ganze durch jede Richtungsspindel eingenommene Eiabschnitt unterscheidet sich von dem ganzen Ei durch seinen helleren Farbenton, da er immer von grösseren Deutoplasmamassen frei bleibt. Das ganze Ei ist hingegen im Übrigen von verschieden grossen Deutoplasma-Kugeln ausgefüllt. Die Kugeln, die sich mit Eisen-Alaun-Hämatoxylin schwarz färben, bieten je nach dem Differenzierungsgrade verschiedene Bilder. Manche von ihnen sind noch ganz schwarz, in anderen ist die Corticalschicht entfärbt, während das Centrum noch ganz schwarz erscheint, bei weiterer Differenzierung endlich ist die ganze Hauptmasse der Kugel entfärbt, in ihrem Inneren gewahrt man aber eine kleine Zahl von schwarzen Fäden oder Körnchen, so dass das ganze Gebilde einen Kern mit Chromatingerüst nachahmen kann.

Die Befruchtung.

Der in das Ei eindringende Samenfaden gelangt in das Ei mit seiner ganzen Geissel, ähnlich wie dies schon für andere Gasteropodeneier beschrieben wurde. Die Verfolgung der Schicksale der Geissel bietet bei Aplysia, der grossen Deutoplasmamassen wegen, viel Schwierigkeit und liefert selten befriedigende Bilder. Einige Zeit ist sie noch in der Eizelle sichtbar, verschwindet aber sodann in dem sie umgebenden Plasma. Der während des Eindringens scharf zugespitzte Spermakopf beginnt, gleich nachdem er ins Ei eingedrungen ist,

aufzuquellen. Er bildet ein Komma-artiges, tief schwarzes Gebilde, das durch das dünne Mittelstück mit der Geissel verbunden ist. An dem der Geissel näher liegenden Mittelstückende erblickt man an Eisenhämatoxylinpräparaten ein kleines schwarzes, nicht ganz punktförmiges, sondern eher scheibenförmiges Körperchen (Fig. 9, 10), das seiner Lage und seiner färberischen Reaction nach, als Centrosoma gedeutet werden muss. Es entspricht auch gänzlich der Gestalt des von Godlewski für Helix pomatia beschriebenen Centrosomas des Samenfadens.

Der Spermakopf, der mit seinem Centrosoma durch das Mittelstück verbunden ist, liegt anfangs näher der Eimitte, als das Centrosoma, später aber sehen wir ein ganz umgekehrtes Verhältniss (vgl. Fig 9 und 10); es hat sich also bereits in einem frühen Stadium die typische Drehung des Samenfadens vollzogen. Wenn dieselbe trotzdem etwas später erfolgt, als in anderen Eiern, so ist dies den grossen Deutoplasmamassen zuzuschreiben, da sie einer schnellen Umdrehung grosse Hindernisse bieten. In den weiteren Stadien nimmt der Spermakopf eine kugelige Gestalt an und ist an Hämatoxylin-Eisen-Alaun-Präparaten von den ihn umgebenden Dotterkugeln sehr schwer zu unterscheiden. Um ihn weiter verfolgen zu können, musste ich während dieser Stadien andere Tinctionen, die die Deutoplasmakugeln nicht mitfärbten, anwenden. So wandte ich reines Hämatoxylin, Gentianaviolet, und Methylgrün an. Alle diese Tinctionsmittel liessen den Spermakopf deutlich erkennen, das Centrosoma blieb natürlich ungefärbt. Wenn der bereits bläschenförmige Spermakern in das von Dotter freie Gebiet vorgedrungen ist, erblickt man gleich in seiner Nähe, gewöhnlich schon zwei von Strahlungen umgebene Centralkörperchen. Sie haben die Gestalt kleiner drehrunder Körnchen, die das Centrum und den Ansatzpunkt für die Strahlen bilden.

Den weiblichen Kern haben wir gleich nach der Bildung des zweiten Richtungskörpers verlassen. Die im Ei zurückgebliebenen Chromosomen bilden bald einen kleinen, meist deutlich gelappten Kern. Das Centrosoma, das noch bis in die letzten Sta-

dien der Anaphasen der Richtungskörperbildung deutlich war, schwindet spurlos, und nur ein kleiner Rest der mit ihm zugrundegehenden Strahlung deutet noch eine Zeit lang seine frühere Lage an.

Die anfangs sehr kleinen Vorkerne beginnen nun gleichmässig aufzuquellen. Sie bieten in ihrer gegenseitigen Lage verschiedene Differenzen dar. Wenn das Spermatozoon am vegetativen Pole des Eies eingedrungen ist, so arbeitet sich der Spermakern durch die ganzen Deutoplasmamassen hindurch und steigt gegen den am animalen Pole liegenden Eikern empor. Die Copulationsebene der beiden Vorkerne liegt dann dem Eiaequator paralell. Die Centrosomen und ihre Strahlungen gelangen in die Copulationsebene und nehmen eine symmetrische Stellung den beiden Kernen gegenüber ein (vgl. Fig. 11, 12, 13, 14). Wenn aber der Samenfaden näher dem späteren animalen Pole eingedrungen ist, rückt der männliche Kern von der Seite an den weiblichen Vorkern heran. Die Copulationsebene bildet sodann mit dem Aequator einen spitzen oder sogar rechten Winkel. Die Lage der Centrosomen und die zwischen ihnen sich entwickelnde Spindel ist in diesem Falle sehr verschieden, wie dies die Fig. 17, 18, 19 illustrieren. Wie hieraus ersichtlich, können wir keine typische Lage der Vorkerne zu einander, und mithin auch keinen typischen Verlauf der Copulationsebene feststellen. Hierin spricht sich ein Gegensatz zwischen dem befruchteten Ei von Aplysia und den befruchteten Eiern (mit ungleichmässig vertheiltem Dotter) der meisten anderen Thiere aus, bei denen stets der Befruchtungsvorgang mit der Einstellung der Centrosomen und der achromatischen Figur in eine typische, stets gleich verlaufende Copulationsebene endet.

Die beiden ganz nahe an einander liegenden Vorkerne fliessen in diesen Stadien nie zusammen, so dass sich auch die Differenzierung der Chromosomen in jedem ganz selbständig vollzieht. In vielen Fällen konnte ich einen bedeutenden Unterschied in ihrem Entwickelungsgrade beobachten. So kann sich der männliche Vorkern, wie es die Fig. 16 zeigt,

schon in Chromatinschleifen umwandeln und seine Kernmembran verlieren, während der weibliche noch intact an seiner Stelle verharrt. Die Ausbildung der Chromosomen und die Auflösung der Kernmembran erfolgt auch verschieden schnell, ohne zeitliche Abhängigkeit von der Entwickelung der achromatischen Figur. So stellen die Fig. 15, 16, 20. Bilder dar, wo die achromatische Spindelfigur noch eine schiefe Lage einnimmt und sich noch nicht, wie dies im Muttersternstadium stets zu sehen ist, paratangential aufgestellt hat; trotzdem sehen wir beide Vorkerne bereits in ihre Chromatinschleifen aufgelöst.

Die weiblichen wie die männlichen Chromatinschleifen liegen zunächst nach dem Schwund der Kernmembranen ganz gesondert. Erst später werden sie durch die Wirkung der Zugfasern in die Aequatorialebene zum Mutterstern der ersten Furchung eingestellt.

Mit der Bildung der Furchungsspindel ist der Befruchtungsprocess abgeschlossen, und es beginnt seit dieser Zeit die Furchung nach den Regeln der typischen Mitose.

Polyspermie konnte ich niemals wahrnehmen.

Was die Herkunft der Centrosomen der ersten Furchungsspindel betrifft, kann für Aplysia kein Zweifel bestehen. Sie stammen von dem am Spermakopf schon in den ersten Stadien nach seinem Eindringen sichtbaren Spermacentrosoma.

Die Centrosomen haben von dem Augenblick an, wo die Strahlungen sich entwickelt haben, die Gestalt kleiner runder, sich mit Eisen-Alaun-Hämatoxylin schwarz färbender Körnchen und erscheinen in unmittelbarer Verbindung mit den Protoplasmastrahlen. Diese Gestalt und dieses Verhältnis zu den Strahlen behalten die Centrosomen während aller folgenden Stadien der achromatischen Figur bei. Eine Vergrösserung der Centrosomen zu grösseren Kugeln konnte während keines Stadiums beobachtet werden.

Die nach der Bildung des Muttersterns sehr mächtigen Polstrahlungen schieben das ganze Deutoplasma dem unteren

Eipole zu. Es entsteht noch viel ausgesprochener, als zur Zeit der Richtungskörperbildung, ein scharfer Unterschied zwischen dem animalen und vegetativen Pole. Der animale Pol ist ganz hell, er enthält zwischen den Protoplasmastrahlen nur die feinsten Deutoplasmakörnchen; an dem vegetativen dagegen finden wir die ganze Masse des grosskugeligen Deutoplasmas angesammelt.

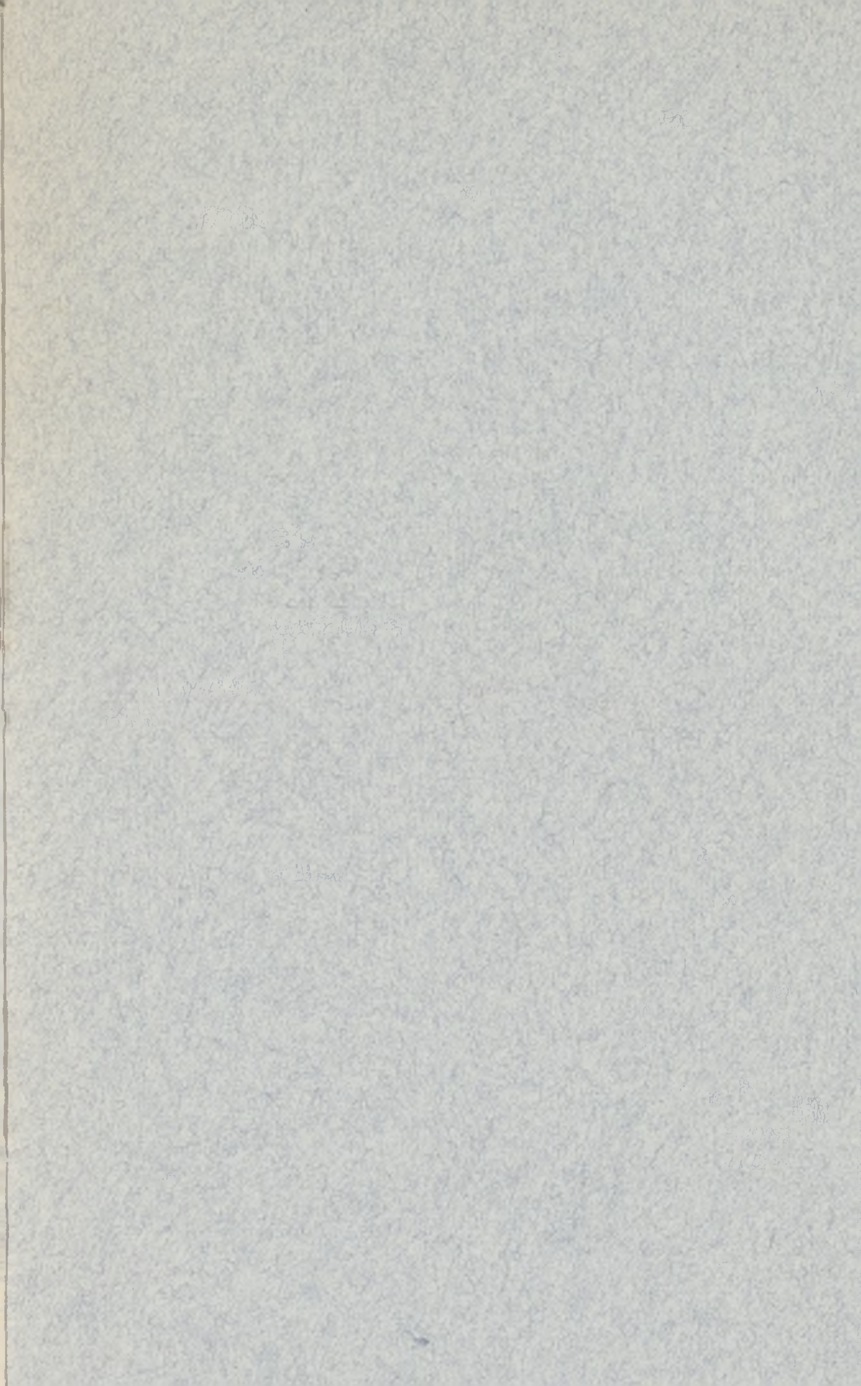
Die Centrosomen der Furchungsspindel theilen sich sehr schnell, so dass noch im Muttersternstadium sehr oft an den Polen je zwei Centrosomen zu sehen sind. Die Centralspindelfasern, die während der Metakinese deutlich sichtbar wurden, weisen im Aequator die charakteristischen Verdickungen auf; dieselben werden durch die zunächst vom animalen Pole eindringende erste Theilungsfurche stark eingedrückt; und da die erste Furche am animalen Pole sich nicht nur viel früher zu entwickeln beginnt, als am vegetativen, sondern auch sehr rasch in's Eiinnere vordringt, so wird der aus den Verdickungen der Centralspindelfasern entstandene Zwischenkörper bis an die Grenze zwischen dem feinkörnigen Protoplasma und dem mit grossen Deutoplasmakugeln ausgefüllten Zelltheil vorgeschoben. Die Centralspindel erleidet dadurch die für die Telophasen charakteristische Verbiegung.

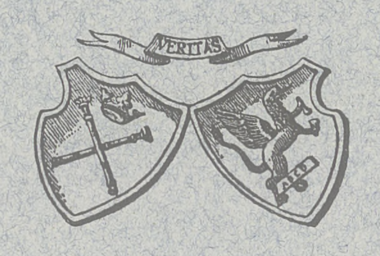
Cracovie, 1899. — Imprimerie de l'Université Jagellonne.

Eipole zu. Es entsteht noch viel ausgesprochener, als zur Zeit der Richtungskörperbildung, ein scharfer Unterschied zwischen dem animalen und vegetativen Pole. Der animale Pol ist ganz hell, er enthält zwischen den Protoplasmastrahlen nur die feinsten Deutoplasmakörnchen; an dem vegetativen dagegen finden wir die ganze Masse der grosskugeligen Deutoplasma angesammelt.

Die Centrosomen der Furchungsspindel theilen sich sehr schnell, so dass schon im Muttersternstadium sehr oft an den Polen je zwei Centrosomen zu sehen sind. Die Centralspindelfasern, die während der Metakinese deutlich sichtbar wurden, weisen im Aequator die charakteristischen Verdickungen auf; dieselben werden durch die zunächst vom animalen Pole eindringende erste Theilungsfurche stark eingedrückt, und da die erste Furche am animalen Pole sich nicht nur viel früher zu entwickeln beginnt, als am vegetativen, sondern auch sehr rasch in's Innere vordringt, so wird der aus den Verdickungen der Centralspindelfasern entstandene Zwischenkörper bis an die Grenze zwischen dem feinkörnigen Protoplasma und dem mit grossen Deutoplasmakugeln angefüllten Zelltheil vorgeschoben. Die Centralspindel erleidet dadurch die für die Telophasen charakteristische Verbiegung.






VERITAS